



Araştırma Makalesi

www.ziraat.selcuk.edu.tr/ojs  
Selçuk Üniversitesi  
Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi  
25 (1): (2011) 106-114  
ISSN:1309-0550



## Yaygın Olarak Ekimi Yapılan Buğday Tohumlarında Bakteriye Yaprak Çizgi Hastalığı'nın (*Xanthomonas translucens*) Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar

Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ<sup>1,2</sup>, Sebahat ALTINPARMAK<sup>1</sup>, Nuh BOYRAZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya / Türkiye

(Geliş Tarihi: 10.09.2009, Kabul Tarihi:26.12.2009)

### Özet

*Xanthomonas translucens*' in sebep olduğu bakteriyel yaprak çizgi hastalığı, buğdaylarda uygun koşullarda önemli verim kaybına sebep olabilmektedir. Yaygın olarak ekimi yapılan farklı çeşitlerdeki buğday tohumlarında etmenin varlığını belirlemek amacıyla, Konya ilinde 36 farklı buğday çeşidi incelenmiştir. Etmenin izolasyon ve tanısında, NA, YDCA, KB, SX ve XTS besi yerlerinde gelişim, 35 °C' de gelişim, esculin hidrolizi ve cystein'den hidrojen sülfid oluşumu, litmus milk testi, ureaz aktivitesi, arginin dihidrolaz, oksidaz ve arabinozdan asit oluşumu testleri belirleyici olmuşlardır. Patojenisite testlerinde hassas çeşit olarak Gerek 79 kullanılmış ve tipik yaprak belirtileri elde edilmiştir. PCR ile tanı, spesifik 139 bp'lik fragmentin amplifikasyonu için T1 ve T2 primerleri kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, 265 adet buğday tohumu örneğinden 72 örneğin *X. translucens* ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. İncelenen buğday çeşitleri içerisinde, *X. translucens* en fazla Gerek 79 (%63.63) ve en az Yıldız 98 (%6.25) çeşidi tohumlarından izole edilmiştir. Etmenin, tüm buğday tohumlarındaki genel yüzde bulaşıklılık oranı %27.16 olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler;** buğday, *Xanthomonas translucens*, tohum, PCR

### Researches on Determination of *Xanthomonas translucens*, the Causal Agent of Bacterial Leaf Streak of Wheat on Widely Sown Seeds

#### Abstract

Bacterial leaf streak of wheat caused by *Xanthomonas translucens* can cause important losses on wheat in suitable conditions. In order to determine the occurrence of the disease agent on various samples of seed sown widespread 36 wheat cultivars were investigated. For the identification and isolation of the pathogen growth on NA, YDCA, KB, SX and XTS media and at 35 °C, hydrolysis of aesculin, production of hydrogen sulphide from cystein, action lithmus milk, urease activity, arginine dihydrolase, acid production from oxidase and arabinose tests were used. The wheat cultivar Gerek 79 was used as susceptible cultivar for pathogenicity and typical leaf symptoms were obtained. Detection of the pathogen by PCR, T1 and T2 primers which amplified a specific 139-bp fragment were used. With the examination of seed samples of 72 seed samples out of 265 were found contaminated by the pathogen. *Xanthomonas translucens* was the most and least frequently isolated form Gerek79 (63.63%) and Yıldız 98 (6.25%) wheat cultivars, respectively. General percent infestation ratio of the agent was determined as 27.16% in all of the wheat seeds.

**Key Words;** wheat, *Xanthomonas translucens*, seed, PCR

### Giriş

Türkiye, üretim miktarı bakımından dünyada önde gelen tahıl yetiştiricisi ülkelerden birisidir (Anonim, 2005). Tahıl üretimimizin büyük çoğunluğu İç Anadolu Bölgesi'nde olup, bunu sırasıyla Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu, Ege, Karadeniz ve Doğu Anadolu Bölgeleri takip etmektedir. Tahıllar içerisinde en önemli payı buğday almaktadır. Ülkemizde 2009 yılında, 81.000.000 da ekiliş alanında 20.600.000 ton buğday üretimi gerçekleşmiş ve ortalama olarak 254 kg/da verim elde edilmiştir (Anonim, 2010).

Buğdayda değişik şekillerde zarar yaparak önemli verim kayıplarına neden olan pek çok abiyotik ve

biyotik kökenli etmen bulunmaktadır. Buğdayda yaklaşık 40 adet fungal, bakteriyel ve viral hastalık önemli kayıplara neden olmakta, bu hastalıkların çoğu tohumla tarladan tarlaya ve ülkeden ülkeye taşınmaktadır. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas fuscovaginae*, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, *Xanthomonas translucens* ve *Erwinia rhapontici* tohumla taşınan önemli bakteriyel etmenlerdir (Duveiller ve ark., 1997).

*Xanthomonas translucens*'in neden olduğu bakteriyel çizgi hastalığı, öncelikle arpada (Jones ve ark., 1917), daha sonrada sırasıyla buğday (Smith ve ark., 1919), çavdar (Reddy ve ark., 1924), çayırlar (Wallin, 1946) ve son olarak da tritikale de (Zillnsky ve Borlaug, 1971) tespit edilmiştir.

<sup>2</sup>Sorumlu Yazar: [kbastas@selcuk.edu.tr](mailto:kbastas@selcuk.edu.tr)

Bakteriyel çizgi hastalığı özellikle yağmurlama sulamanın yapıldığı tarlalarda, fazla yağışlı subtropik yüksek yerlerde ve ani sıcaklık değişimlerinin olduğu ılıman bölgelerde yaygındır. Hastalık sebebiyle ürün kayıplarının genellikle %10 civarında olduğu belirlenmekle beraber bazı ülkelerde zararın %40' lara kadar ulaşabildiği bildirilmiştir (Forster, 1982; Forster ve ark., 1986). Ülkemizde etmen, Demir ve Üstün (1992) tarafından Ege Bölgesinde rapor edilmiştir.

Patojenle bulaşık tohum, hastalığın yayılması, ortaya çıkışı ve çoğalmasında ilk kaynak olması sebebiyle çok önemlidir. Tohum alışverişi hastalığın dağılımında etkili bir yol olup tohum kaynaklı hastalıklar, karantina ve tohum sertifikasyonu açısından da oldukça önemlidir. Uluslar arası tohum alışverişlerinde karantina yönünden, önceden bazı patojenler için sıfır tolerans istenirken, son zamanlarda tohumların tarla ve laboratuvar standartlarına uygun olması istenmektedir.

Bu özellik dikkate alınarak yürütülen çalışmamızda, İç Anadolu Bölgesi'nde yaygın olarak ekimi yapılan farklı çeşitlerdeki buğday tohumlarıyla taşınan ve önemli zararlara sebep olabilen *X. translucens*'in biyokimyasal ve moleküler düzeyde tanısının yapılarak, tohumla bulaşıklık düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

#### Denemede kullanılan bitki materyali

Denemede farklı çeşitlerdeki buğday tohumlarıyla taşınan *X. translucens*'in bulaşıklılık durumlarını belirlemek amacıyla, yaygın olarak ekimi yapılan 36 çeşit (Ağasaklı 51, Aksel 2000, Atay 85, Bağcı 2002, Başarakavak 45, Bezostiya 1, Bezostiya 5, Bolal 2973, Çeşit 1252, Çeşit 232, Çeşit 275, Çeşit 285, Çeşit 305, Dağdaş 94, Divanlar 67, Gerek 79, Göksu 99, Gün 91, Karahan 99, Katia, Kınacı 97, Kıracı 68, Kızılkuyu 22, Kızılkuyu 28, Kızılkuyu 38, Kızıltan 91, Konya 2002, Kutluk 94, Obruk 109, Pehlivan, Seri 82, Sönmez 2001, Sultan 95, Yakar, Yenice oba 93, Yıldız 98) buğday tohumu incelenmiştir. Aşırı duyarlılık testlerinde White Burley çeşidi tütünler kullanılırken, patojenisite testlerinde Gerek 79 çeşidi buğdaylar kullanılmıştır.

### Referans kültürler

Denemelerde kullanılan *Xanthomonas translucens* (Xt3024) referans izolatu Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü ve negatif kontrol olarak kullanılan *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (XaP23) izolatu Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

## Metot

### Tohum örnekleri

Uluslar arası tohum testleme birliğinin (International Seed Testing Association=ISTA) standartlarına göre planlanan çalışmamızda, Konya ilinde 19 ilçe (Ahırlı, Akşehir, Altınekin, Beyşehir, Bozkır, Cihanbeyli, Çumra, Ereğli, Hadim, Ilgın, Kadınhanı, Karapınar, Kulu, Sarayönü, Seydişehir, Yunak, Karatay, Selçuklu, Meram)' ye bağlı 157 köyden, 500' er gramlık (ortalama 12.500 adet) tohum örnekleri alınmıştır. İlçelerden temin edilen örnek sayılarının belirlenmesi, ekim alanlarının büyüklüğü dikkate alınarak yapılmıştır. Bunun için her 2500 hektardan 1 örnek olacak şekilde düzenlenen çalışmamızda, bazı ilçelerden 1 örnek alınması gerekirken minimum 5 örnek alınmıştır. Araştırmamız için, 716.112 hektarlık bir bölgeden toplam 36 farklı çeşitte 265 buğday tohumu örneği alınmıştır (Tablo 1).

### Patojenin izolasyonu

Tohum sağlığı testleri için, tohumlar akan musluk suyuyla yıkandıktan sonra, saprofitik mikroorganizmalardan arındırmak amacıyla tohumlar % 2'lik NaOCl'de 2 dk. tutularak 3 kez steril saf suyla durulanmıştır. Ekstraksiyon için 3000 adet'lik tohum örnekleri (yaklaşık 120 g), 1 damla Tween 20 ilave edilmiş 120 ml buffer saline konulmuş ve 200 rpm çalkalayıcı inkübatörde 10 dk oda sıcaklığında inkübasyondan sonra saprofitik kontaminasyonu önlemek amacıyla yaklaşık 2 saat kadar +5°C'de bekletilmişlerdir (Saettler ve ark., 1989). İzolasyonlarda standart ve seçici (NA=Nutrient Agar, KB=King's Medium, YDCA=Yeast Dextrose Calcium Carbonat Agar, SX ve XTS (Schaad ve Forster, 1985; Lelliot and Stead 1987; Klement ve ark., 1990) besi yerleri kullanılmıştır.  $10^{-3}$ - $10^{-6}$  oranlarında seyreltilmiş bakteriyel süspansiyonların standart ve yarı seçici besi yerlerine ekim yapılarak, 25-28 °C' de inkübe edilmişlerdir (Schaad ve Forster, 1989). Saf kültürler elde edildikten sonra bakterinin 24 saatlik saf kültüründen 500 µl %30'luk gliserol ve 500 µl LB Broth içeren ependorf tüplerde -30°C'de muhafaza edilmişlerdir.

### Morfolojik ve biyokimyasal testler

Etmenin izolasyon ve tanısında, NA, YDCA, KB, SX ve XTS (Nutrient agar 23.0 g, Glikoz 5.0 g, 1000 ml saf su, otoklavdan sonra; Cycloheximide 2.0 ml (%75'lik etanolün 10 ml'sinde 1.0 g), Cephalexin 1.0 ml (%75'lik etanolün 5.0 ml'sinde 50 mg) besi yerlerinde gelişim, %3'lük KOH testi, 35 °C' de gelişim, esculin hidrolizi ve cysteinden hidrojen sülfid oluşumu, litmus milk testi, üreaz aktivitesi, arginin dihidrolaz, oksidaz ve arabinozdan asit oluşumu testleri belirleyici olmuşlardır (Schaad 2001). Etmenin teşhisinde kullanılan biyokimyasal testler, her bir izolat için en az 3'er tekrerrürlü olarak yapılmıştır.

### Tütünde aşırı duyarlılık testi (HR)

Denemelerde *Nicotiana tabacum* cv. White Burley tütün çeşidi kullanılmış ve bitkiler iklim odası koşullarında (%70–80 nispi nem, 23–25 °C sıcaklık 16 saat ışıklı ve 8 saat karanlıkta) yetiştirilmiştir. *X. translucens* izolatları, NA besisi yerinde geliştirilmişler, 660 nm dalga boyunda 0.15 OD'de  $10^8$  hücre/ml süspansiyonlar hazırlanmıştır. Çiçeklenme döneminden önceki tütün bitkilerinin inokulasyona uygun yaprakların damar aralarındaki alanlara 0.46 çapındaki hipodermik enjektör yardımıyla bakteriyel süspansiyonlar enjekte edilmiştir. Her bir yaprağa ortalama 3 farklı izolat inokule edilirken, bir izolat en az 3 farklı yaprağa inokule edilmiştir. İnokulasyondan sonraki 48 saat içerisinde doku nekrozuna sebep olan izolatlar pozitif olarak kabul edilmiştir (Klement ve ark., 1964; Fahy ve Persley, 1983).

### Patojenisite testi

Patojenisite testleri, sera koşullarında saksılarda yetiştirilen (her saksıda 15 bitki) 3 haftalık Gerek 79 çeşidi buğday bitkilerine, NA besisi yerinde geliştirilen 48 saatlik *X. translucens* kültürlerinden,  $10^8$  hücre/ml yoğunluktaki süspansiyonlara batırılan steril bir iğneyle hipokotil inokulasyonu yapılmıştır. Kontrol bitkilerine steril saf su enjekte edilmiş, tüm bitkilerin üzerlerine 24 saat süre için polietilen torbalar geçirilmiştir. Bitkiler 25–28 °C'de 10 gün bekletildikten sonra yapraklarda tipik bakteriyel belirtilerinin oluşup oluşmadığına bakılmıştır. İnokulasyondan sonra küçük yağ lekeleri şeklinde başlayan ve 15 gün içerisinde çoğalarak uzunlamasına genişleyerek çizgi şeklini alan lekeler tipik semptom olarak kabul edilmiştir (Demir ve Üstün, 1992). Semptom oluşan dokulardan patojenin yeniden izolasyonu ve saflaştırması yapılarak, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir Test 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

### Moleküler tanı

#### DNA izolasyonu

Araştırma sonucu elde edilen *X. translucens* izolatlarından DNA izolasyonu, Maes ve ark., (1996)'a göre yapılmıştır.

#### DNA amplifikasyonu için spesifik primer ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) protokolu

Etmenin PCR ile tanısı, 139 bp'lik fragmentin amplifikasyonu için spesifik; T1 (5'CCGCCATAGGGCGGAGCACCCCGAT3) ve T2 (5'GCAGGTGCGACGTTTGCAGAGGGATCTTCTGCAAA-3') primerleri kullanılarak yapılmıştır (Maes ve ark., 1996).

Toplam 25 µl hacimde hazırlanan PCR çözeltisinin içeriği; Bakteri DNA'sı 2 µl, PCR Master Mix (0.05 ünite/µl *Taq* DNA, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mM dATP, 0.4 mM dCTP, 0.4 mM dGTP ve 0.4 mM dTTP) 12.5 µl, Forward primer 2 µl, Revers primer 2 µl, distile saf su

6.5 µl şeklinde olmuştur. Termal cykler (Eppendorph mastercykler personal)' da programlanan PCR protokolü; 90°C'de 2 dk inkübasyon (1 döngü), 93°C'de 30 sn denaturasyon, 53°C'de 45 sn primer bağlama ve 68°C'de 1 dk amplikon sentezi (35 döngü) ve 70°C'de 10 dk inkübasyon (1 döngü) ile tamamlanmıştır (Maes ve ark., 1996). Elde edilen PCR ürünleri, %1'lik agaroz jel içerisinde, 1.5 kb'lik moleküler marker (Fermantas 100 bp Plus DNALadder) ile elektroporasyona tabi tutulmuş, agaroz jelde oluşan DNA bantlarının (Sambrook ve Russell, 2001), transilluminatörde (Vilber Lourmat) ve Biolab, Quantity One Imaging and Analysis PDQest 2-D Gel Analysis Software, User Guide for Version 4.1 Windows ile analiz edilmiştir.

### Tohumların patojenle bulaşıklık oranlarının belirlenmesi

Bir ilçedeki yüzde bulaşıklık oranı (IB), ilçedeki etmenle bulaşık tohum örneği sayısının ( $\sum$  ibt), ilçeden toplanan toplam tohum örneği sayısına ( $\sum$  its) yüzde oranlanması (1),

$$IB (\%) = \frac{\sum ibt}{\sum its} \times 100 \quad (1)$$

Bir buğday çeşidindeki yüzde bulaşıklık oranı (ÇB), bir çeşitteki etmenle bulaşık toplam örnek sayısının ( $\sum$  çbt), o çeşitten toplanan toplam örnek sayısına ( $\sum$  çts) yüzde oranlanması (2),

$$\text{ÇB} (\%) = \frac{\sum \text{çbt}}{\sum \text{çts}} \times 100 \quad (2)$$

Tüm buğday çeşitlerinde belirlenen genel yüzde bulaşıklık (GB), tüm çeşitlerden toplanan bulaşık toplam örnek sayısının ( $\sum$  tçbt), tüm çeşitlerden toplanan toplam örnek sayısına ( $\sum$  tçtt) yüzde oranlanması ise etmenin, incelenen tohum çeşitlerindeki genel bulaşıklık oranı (3),

$$GB (\%) = \frac{\sum t\text{çbt}}{\sum t\text{çtt}} \times 100 \quad (3)$$

olarak hesaplanmıştır.

### Araştırma Bulguları

Yaygın olarak ekimi yapılan farklı çeşitlerdeki buğday tohumlarında *X. translucens*' in varlığını belirlemek amacıyla, Konya ilinde, 19 ilçeye bağlı 157 köyden toplanan 36 farklı buğday çeşidi tohumu incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, toplanan 265 adet tohum örneğinden 72'sinin *X. translucens* ile bulaşık olduğu tespit edilmiş (Tablo1) ve bunlardan 101 adet *X. translucens* izolatı elde edilmiştir.

İncelenen buğday çeşitleri içerisinde, en fazla Gerek 79 (%63.63) ve en az Yıldız 98 (%6.25) çeşidi tohumlarında *X. translucens* bulaşıklığı tespit edilmiştir. İncelenen 36 farklı çeşit buğday tohumunda patojenin genel taşınma oranı % 27.16 olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

### Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

Araştırmamızda *X. translucens* olarak tanımlanan 101 adet izolat, 35°C'de gelişim, YDCA besiyerinde

mukoid gelişim, esculin hidrolizi, cysteinden hidrojen sülfid oluşumu, arabinozdan asit oluşumu testlerine pozitif, litmus milk testine alkali, %3'lük KOH testi, üreaz aktivitesi, KB besi yerinde fluoresan pigment oluşumu, SX besiyerinde gelişim, arginin dihidrolaz

ve oksidaz testlerine negatif sonuçlar vermiştir. İzolatlar, XTS besi yerinde, kabarık, parlak, düz kenarlı, renk ise koyu sarı renkte gelişim göstermişlerdir (Tablo 3).

Tablo 1. Konya İlinde Buğday Ekim Alanları (ha), 19 İlçeden Toplanan 36 Farklı Çeşit Buğday Tohumu Örnek Sayısı, *X. translucens* İzole edilen Örnek sayısı ve İlçe ve İl Genelinde Etmenle Bulaşıklık Oranları (%)

İlçeler	Örnek Alınan Çeşitler	Buğday ekim alanı (ha)	Toplanan örnek sayısı	<i>X. translucens</i> ile bulaşık örnek sayısı	İlçe Genelinde <i>X. translucens</i> ile Bulaşıklık (%)
Ahırılı	Gerek 79, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızıltan 91,	3.200	5	1	20.00
Akşehir	Gerek 79, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızıltan 91	12.717	5	1	20.00
Altınekin	Gerek 79, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızılkuyu 22, Divanlar 67, Ağasaklı 51, Çeşit 232, Çeşit 305,	30.000	12	3	25.00
Beyşehir	Gerek 79, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızılkuyu 22, Kızılkuyu 28	23.600	9	2	22.22
Bozkır	Gerek 79, Çeşit 1252, Kızıltan 91, Bezostiya 1, Dağdaş 94	3.150	5	1	20.00
Cihanbeyli	Gerek 79, Çeşit 1252, Kızıltan 91, Yeniceoba 93, Kızılkuyu 28	70.000	27	9	33.33
Çumra	Gerek 79, Göksu 99, Kutluk 94, Bolal 2973, Atay 85, Çeşit 232	50.700	20	5	25.00
Ereğli	Gerek 79, Karahan 99, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızılkuyu 22	25.000	10	2	20.00
Hadim	Gerek 79, Çeşit 285, Çeşit 1252, Kızıltan 91, Yeniceoba 93	1.990	5	2	40.00
Ilgın	Gerek 79 Ağasaklı 51, Çeşit 232, Çeşit 305, Çeşit 285, Çeşit 1252, Kızıltan 91, Yeniceoba 93, Çeşit 275, Bezostiya 5	33.500	13	4	30.76
Kadınhanı	Gerek 79 Kutluk 94, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kırac 68, Göksu 99, Kutluk 94, Bolal 2973, Divanlar 67, Ağasaklı 51, Yeniceoba 93	40.000	16	6	37.50
Karapınar	Gerek 79, Başarakavak 45, Çeşit 285, Çeşit 1252, Kızıltan 91, Yeniceoba 93, Çeşit 275, Bezostiya 5, Yeniceoba 93	30.500	12	3	25.00
Kulu	Gerek 79, Kırac 68, Ağasaklı 5, Kutluk 94, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Gerek 79, Gün 91, Pehlivan, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Kızılkuyu 22, Karahan 99, Yıldız 98, Katia, Yenice oba 93	66.500	26	7	26.92
Sarayönü	Gerek 79, Başarakavak 45, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Obruk 109, Kızılkuyu 22,	45.000	18	4	22.22
Seydişehir	Karahan 99, Aksel 2000, Yıldız 98, Katia Gerek 79, Ağasaklı 5, Kutluk 94, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Gerek 79, Sönmez 2001, Gün 91, Pehlivan	12.880	5	2	40.00
Yunak	Gerek 79, Bağcı 2002, Ağasaklı 51, Divanlar 67, Çeşit 285, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Gün 91, Pehlivan, Katia, Çeşit 232, Atay 85, Sultan 95, Konya 2002, Karahan 99, Aksel 2000	90.000	35	9	25.71
Karatay	Gerek 79, Bağcı 2002, Bezostiya 1, Dağdaş 94, Gün 91, Pehlivan, Bolal 2973, Katia, Çeşit 232, Atay 85, Sultan 95, Kızıltan 91, Yeniceoba 93, Çeşit 275, Seri 82, Kınacı 97, Bezostiya 5, Çeşit 305, Kızılkuyu 33, Yıldız 98 Aksel 2000, Divanlar 67, Obruk 109,	102.700	40	11	27.50
Selçuklu	Meram				
Meram	Ağasaklı 51, Kızılkuyu 22, Başarakavak 45, Sönmez 2001, Yakar				
(Merkez)					
<b>TOPLAM</b>		<b>716.112</b>	<b>265</b>	<b>72</b>	
<b>İncelenen Tüm Buğday Çeşitlerindeki <i>X. translucens</i> ile Genel Bulaşıklık Oranı (%)</b>					<b>27.16</b>

#### Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

İnokulasyondan sonraki 48 saat içerisinde, *X. translucens* izolatlarının hepsi tütünde doku nekrozuna sebep olmuştur (Tablo 3).

#### Patojenisite Testi

Gerek 79 çeşidi kullanılarak yapılan patojenisite testlerinde, 101 adet *X. translucens* izolatından 89 adedi patojen olarak belirlenmiştir. Patojenisite göstermeyen izolatlar Gerek 79 (6 adet), Yıldız 98 (4 adet), Kırac

68 (1 adet) ve Kınacı 97 (1 adet) çeşitlerinden elde edilmiştir.

#### Moleküler Tanı

*X. translucens*'in moleküler tanısında spesifik T1 ve T2 primerleri kullanılmış, denemeden elde edilen 101

adet izolataın, 139 bp büyüklüğünde tek bant oluşturduğu belirlenmiştir. *X. translucens* olarak tanımlanan izolatlardan bazılarının oluşturduğu spesifik bantlar Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Farklı Buğday Çeşitlerinden Toplanan Örnek Sayısı, *X. translucens* ile Bulaşık Örnek Sayısı ve Tohumların *X. translucens* İle Bulaşıklık Oranları (%)

Buğday Çeşitleri	Toplanan Örnek Sayısı	Patojenle bulaşık Örnek Sayısı	Tohumların <i>X. translucens</i> İle Bulaşıklık Oranları (%)
Ağasaklı 51	5	1	20.00
Aksel 2000	6	2	33.33
Atay 85	4	1	25.00
Bağcı 2002	6	2	33.33
Başarakavak 45	3	1	33.33
Bezostiya 1	22	2	9.09
Bezostiya 5	3	1	33.33
Bolal 2973	3	1	33.33
Çeşit 1252	6	1	16.66
Çeşit 232	6	1	16.66
Çeşit 275	3	1	33.33
Çeşit 285	4	2	50.00
Çeşit 305	4	1	25.00
Dağdaş 94	12	3	25.00
Divanlar 67	4	1	25.00
Gerek 79	33	21	63.63
Göksu 99	5	1	20.00
Gün 91	9	2	22.22
Karahan 99	4	1	25.00
Katia	4	1	25.00
Kınacı 97	8	2	25.00
Kıraç 68	12	2	16.66
Kızılkuyu 22	6	1	16.66
Kızılkuyu 28	6	2	33.33
Kızılkuyu 33	4	1	25.00
Kızıltan 91	9	2	22.22
Konya 2002	5	1	20.00
Kutluk 94	6	2	33.33
Obruk 109	5	1	20.00
Pehlivan	9	2	22.22
Seri 82	6	1	16.66
Sönmez 2001	8	2	25.00
Sultan 95	8	2	25.00
Yakar	7	2	28.57
Yeniceoba 93	4	1	25.00
Yıldız 98	16	1	6.25
<b>TOPLAM</b>	<b>265</b>	<b>72</b>	
<b><i>X. translucens</i>' in 36 Farklı Çeşit Buğday Tohumundaki Bulaşıklık Oranı (%)</b>			<b>27.16</b>

#### Tartışma

Ülkemiz, tahıl üretiminde dünyada önemli bir yere sahip olmasına rağmen, bakteriyel hastalıklar ile ilgili çalışmaların sayısı oldukça azdır. Fungal ve viral etmenlerin bitki patolojileri tarafından izole edildiği, incelendiği ve tanılandığı; fakat buğday bakteriyel

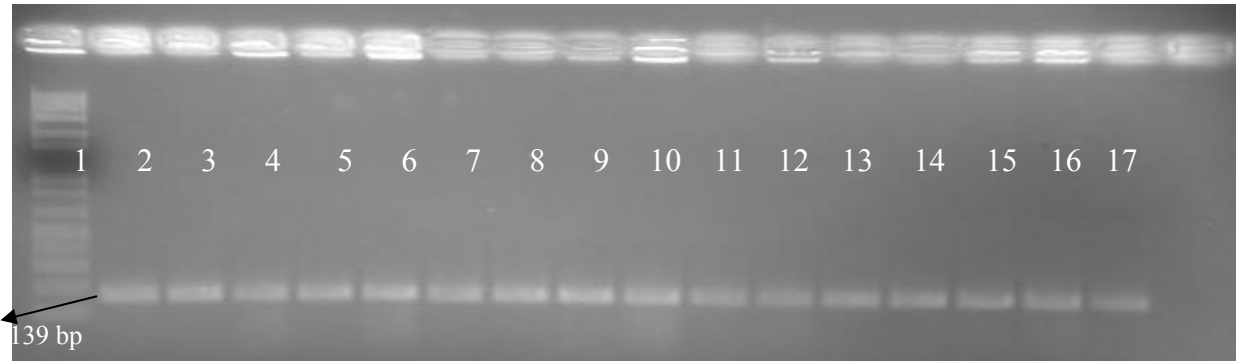
hastalıklarının tanılanmasında sadece semptomlara bakıldığı, testlere dayanarak tanılamaların yapılmadığı bildirilmektedir (Özkan ve Aktaş, 1975; Aktaş, 1982; Aktaş, 1984; Aktaş ve ark., 1994; Aktaş ve ark., 1995; Demirci, 1998; Aktaş ve ark. 2000; Demirci ve Eken, 1999).

Ülkemizde etmenin varlığı ilk kez Demir ve Üstün (1992) tarafından Ege Bölgesinde belirlenmiştir. Araştırmacıların yaptıkları çalışmada, Ege 88 isimli makarnalık buğday çeşidini hastalığa en hassas çeşit olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, Türkiye’de önemli oranda yetiştiriciliği yapılan Gerek 79 çeşidi buğday tohumlarında, *X. translucens* bulaşıklığının,

incelenen 36 çeşit içinde en fazla düzeyde olduğu ve patojenisite testlerinde tipik semptomlar verdiği tespit edilmiştir. Gerek 79 ve etmenin en az düzeyde bulaşık olduğu belirlenen Yıldız 98 ve Bezostiya I çeşitlerinin ileriki araştırmalarda hastalığa hassasiyet düzeylerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Tablo 3. Denemede *X. translucens*’ in tanınmasında yapılan biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik testler

Testler	<i>X. translucens</i> (referans kültür; Xt3024)	Elde edilen <i>X. translucens</i> izolatları	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> (XaP23)
Gram reaksiyon	-	-	-
35 °C’ de gelişim	+	+	+
KB besiyerinde fluoresan pigment oluşumu	-	-	-
XTS besiyerinde gelişim	+	+	-
YDCA’ mukoid gelişim	+	+	+
SX besiyerinde gelişim	-	-	+
Tütünde hipersensitif reaksiyon	+	+	+
Esculinin hidrolizi	+	+	+
Litmus milk testi	alkali	alkali	alkali
Üreaz aktivitesi	-	-	-
Arginin dehidrolaz	-	-	-
Oksidaz	-	-	-
Arabinozdan asit oluşumu	+	+	-
Cysteinden hidrojen sülfid oluşumu	+	+	+



Şekil 1. Farklı buğday tohumlarından elde edilen *Xanthomonas translucens* izolatlarının PCR tanısında, %1’lik agaroz jelde oluşturdukları spesifik bantlar (1: *X. translucens* ((Xt3024) Referans izolat), 2: XT5, 3: XT6, 4:XT10, 5:XT14, 6:XT22, 7: XT34 8:XT51, 9:XT59, 10: XT69, 11:XT71, 12:XT74, 13:XT79, 14: XT83 15: XT88, 16: XT89, 17: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (XP23) Negatif izolat)

Elde edilen izolatların tür tanınmaları amacıyla yürütülen bazı fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının, literatür verileriyle (Bamberg, 1936; Alizadeh ve Rahimian, 1989; Sands ve Fourest, 1989; Duveiller ve ark., 1989; Sands, 1990; Young ve ark., 1996) uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca patojenisite testlerinde kullandığımız yöntem ve elde edilen bulgular, Maes ve ark. (1996), James (1971), Kennedy (1990)’nin çalışmalarını destekler yönde bulunmuştur.

Maes ve ark (1996), tohum örneklerinde *X. translucens*’ in düşük miktarlarda bulunması durumunda bile T1 ve T2 primerleri kullanılarak 139 bp’ lik fragmentin amplifikasyonu ile güvenilir sonuçlar

elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da araştırmacıların önerdiği spesifik primer seti kullanılmış, biyokimyasal olarak *X. translucens* olarak tanımlanan tüm izolatlarımızın PCR ile teşhisleri desteklenmiştir. Tüm bulguların ışığı altında; 36 farklı buğday çeşidinden elde edilen bakteri izolatları morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, moleküler ve patojenisite özelliklerine göre *X. translucens* (ex Jones, Johnson and Reddy 1917) Vauterin, Hoste, Kersters and Swings 1995 olarak tanımlanmıştır

Özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda spesifik etmeni her zaman izole etmek ve tanılamak mümkün olamamakta, bazen de etmenin tanısı haftalar almaktadır.

Kimi zamansa asıl etmen yerine, ikincil organizmalar izole edilmekte, dolayısıyla hastalığın teşhis kriterleri buna göre düzenlenmektedir. Bu amaçla özellikle moleküler teknikler kullanılarak yapılan teşhisler, doğruluk ve zaman yönünden üstünlük sağlamaktadırlar. DNA amplifikasyonu (PCR) son yıllarda bitki patojenlerinin tanımlanmasında tercih edilen bir yöntemdir (Maes ve ark.,1996; Schaad ve Forster, 1985).

*X. translucens* tohum kökenli bir etmendir ve tohumda canlılığını 63 aydan daha uzun bir süre devam ettirebilmektedir. Etmenin neden olduğu bakteriyel çizgi hastalığının, yağmurlama sulamanın yapıldığı tarlalarda ve sık ya da ani sıcaklık değişimlerinin olduğu bölgelerde daha fazla rastlanılmaktadır (Duveiller ve ark., 1997). İç Anadolu Bölgesindeki tahıl yetiştirilen birçok alanda yağmurlama sulama yapılmasının yanı sıra önemli gece gündüz farklılıklarının yaşandığı yetiştirme koşullarına sahip bir bölgemizdir. Bu durum, etmenin tohumla taşınmasıyla birlikte hastalığın ortaya çıkışında önemli düzeyde etkili olabilecektir.

Etmen dünya üzerinde geniş bir yayılım alanına sahip olmakla beraber EPPO listelerinde karantinaya tabi olan önemli patojenlerdendir (Alizadeh ve Rahimian, 1989; Duveiller, 1989; El-Banoby and Rudolph, 1989). Tarla koşullarında hastalığın mücadelesi bilinmemekte, kimyasal mücadele tohum uygulamalarında odaklanmaktadır. Ancak kimyasalların fitotoksik etkileri ve yeterince başarılı olamayışları nedeniyle sağlıklı ve sertifikalı tohum kullanımı önerilmektedir (Duveiller, 1994 a, b, c).

İç Anadolu Bölgesinde yaygın olarak ekimi yapılan buğday tohumlarında, *X. translucens*' in varlığının ilk kez ortaya konulduğu bu çalışmada, 36 farklı buğday çeşidindeki bulaşıklık oranları belirlenmiştir. Elde edilen izolatların büyük çoğunluğunun patojenik karakterde oluşu ve bazı çeşitlerdeki yüksek bulaşıklık oranları göz önüne alındığında, uygun koşullarda, patojenin önemli ürün kayıplarına neden olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla bu hastalıktan etkilenmeyen veya en az etkilenen çeşit kombinasyonlarının üreticiye önerilmesi hastalıktan korunmada etkili olacaktır. Ayrıca hassas olarak belirlenen çeşitlerin yetiştirildiği ilçeler ve köylerde bulaşmalara karşı dikkatli olunması da faydalı bir yaklaşım olacaktır.

#### Kaynaklar

Agarwal, V. K. and Sinclair, J. B. 1997. Principles of Seed Pathology (Second Edition) Lewis Publishers, CRC Press Inc. USA.

Aktaş H. 1982. Orta Anadolu Bölgesi arpa ve buğday ekim alanlarında görülen kök çürüklüğü hastalık etmeni *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. and Jain'nın yayılışı. III. Türkiye Fitopatoloji Kong., Adana, 10-23.

Aktaş H. 1984. Spread of leaf spots in barley growing areas in Turkey. Proc. 6th cong. of Phytopath. Mediterr. Cairo, Egypt, 338-341.

Aktaş H, Tunalı B and Aktuna İ. 1994. Bolu ve Zonguldak illeri mısır ekim alanlarında görülen fungal etmenlerin saptanması ve bazı önemli patojenlere karşı çeşit reaksiyonları üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK, Tr. J. of Agricultural and Forestry 18: 287 - 295.

Aktaş, H, Aktuna İ, Damgacı, E. and Tunalı B., 1995. Türkiye'de tespit edilmiş bulunan buğday sürme etmeni *Tilletia Foetida* (Wall.) ve *T.caries* (DC) TUL.in ırklarına karşı orta anadolu bölgesinde yetiştirilen ve ümitvar olan buğday çeşit ve hatlarının reaksiyonlarının saptanması üzerinde araştırmalar. VII.Türkiye Fitopatoloji Kongresi Adana s,95-99.

Aktaş H, Bolat N, Keser M and İnce T. 2000. Eskişehir ili hububat ekim alanlarında hububat kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalık etmenlerinin saptanması buğday ve arpada *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. And Jain' ya karşı genitor çeşit ve hatların belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Bitk. Koruma Bült. ISSN0406-3597, 40 (1-2):71-83.

Alizadeh A, and Rahimian H, 1989. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 19, 113-117.

Alizadeh A, Barrault G, Sarrafı A, Rahimian H. and Albertini L. 1994. Identification of bacterial leaf streak of cereals by their phenotypic characteristics and host range in Iran. European Journal of Plant Pathology. 101(3), 225-229.

Anonim, 2005. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Tarımsal Araştırma Master Plan Revizyonu Araştırma Fırsat Alanları (Afa) Veri Değerlendirme Raporları ve Matriksler, Ankara, 172s.

Anonim, 2010. Türkiye İstatistik Kurumu, Tarım İstatistikleri Özeti, Tahıllar. <http://www.tuik.gov.tr>

Bamberg, R.H., 1936. Black chaff disease of wheat. Journal of Agricultural Research 52:397-417.

Demir, G. and Üstün, N., 1992. Studies on bacterial streak disease (*Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Jones et al.) Dye) of wheat and other Gramineae. J. Turk. Phytopath. Vol. 21, No.1, 33-40.

Demirci, E. and Eken, C., 1999. First report of *Rhizoctonia zeae* in Turkey. Plant Disease, 83 (2): 200.

Demirci, E., 1999. *Rhizoctonia* species and anastomosis groups isolated from barley and wheat in Erzurum, Turkey. Plant Pathology, 47(1): 10-15.

Duveiller, E., 1986. La pourriture bactérienne de la chicorée witloof causée par *Pseudomonas cichorii* au Burundi. Parasitica 42, 55-57.

- Duveiller, E., Snacken, F., Maraite, H. and Autrique A., 1989. First detection of *Pseudomonas fuscovaginae* on maize and sorghum in Burundi. *Plant Disease* 73, 514-517.
- Duveiller, E., 1989. Research on '*Xanthomonas translucens*' of wheat and triticale at CIMMYT. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 19, 97-103.
- Duveiller, E., 1994a. A study of *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* populations associated with symptomless wheat leaves. *Parasitica*, 50: 109-117.
- Duveiller, E., 1994b. Bacterial leaf streak or black chaff of cereals. *Bull. OEPP/EPPO Bull.*, 24: 135-157.
- Duveiller, E., 1994c. A pictorial series of disease assessment keys for bacterial leaf streak of cereals. *Plant Dis.*, 78: 137-141.
- Duveiller, E, Fucikovsky L. and Rudolph, H. (eds), 1997. The bacterial diseases of wheat concepts and methods of disease management, Mexico CIMMYT. p78.
- El-Banoby, F. E. and Rudolph, K. W. E., 1989. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 19, 105-111.
- Fahy, P. C. and A. C. Persley, 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests. A Diagnostic Guide. Academic Press, Australia, 393p.
- Forster, R.L., 1982. The status of black chaff disease in Idaho. In *Idaho wheat* (Dec. issue). Owyhee Plaza Hotel, Boise, ID, USA, Idaho State Wheat Growers Association. 20 pp.
- Forster, R.L., Mihuta-Grimm, L. and Schaad, N.W. 1986. Black chaff of wheat and barley. *Current Information Series No. 784*, p. 2. University of Idaho, College of Agriculture.
- James, W.C., 1971. An illustrated series of assessment keys for plant diseases: Their preparation and usage. *Canadian Plant Disease Survey* 51:30-65.
- Jones, L. R., Johnson, A. G. and Reddy, C. S., 1917. Bacterial blight of barley. *J. Agric. Res.* 11: 625-644.
- Kennedy, D., 1990. Estimating losses caused by bacteria. In: *Methods in Phytobacteriology*. Ch. 1.9. Klement, Z, Rudolph, K., and Sands, D.C., eds. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary. pp. 297-300.
- Klement, Z., Farkas, G. L. and Lovrekovich, L., 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology*, 54, 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D. C., 1990. *Methods in Phytobacteriology*, Akademia Kiado, Budapest, 568p.
- Lelliott, R.A., and Stead, D.E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. In: *Methods in Plant Pathology*, Vol. 2. T.F. Preece Series, British Society of Plant Pathology, Blackwell Scientific Publications, Oxford. 216 pp.
- Maes, M., Garbeva, P., and Kamoen, O. 1996. Recognition and detection in seed of the *Xanthomonas* pathogens that cause cereal leaf streak using rDNA spacer sequences and polymerase Chain reaction. *Phytopathology* 86, 63-69.
- Özkan, M. and Aktaş, H., 1975. Türkiye Buğday Hastalıkları Sörvey Çalışmaları. *Zirai Müc. Araşt. Yıllığı*, Sayı 9, 64-65.
- Reddy, C.S., Godkin, J. and Johnson, A.G., 1924. Bacterial blight of rye. *J. Agric. Res.*, 28: 1039-1040.
- Saettler, A. W., Schaad, N. W. and Roth D. A., 1989. *Detection of Bacteria in Seed*. APS Pres. 122p.
- Sambrook, J. and Russell, D., 2001. *Gel electrophoresis of dna and pulsed-field agarose gel electrophoresis molecular cloning: a laboratory manual* (Third Edition). CSHL Press, 2344p.
- Sands, D. C. and Fourest, E., 1989. *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in North and South America and in the Middle East. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 19, 127-130.
- Sands, D. C., 1990. Physiological criteria: Determinative tests. In: *Methods in Phytobacteriology*, Ch. 1.7. Z. Klement, K. Rudolph, and D.C. Sands, eds. Akadémiai Kiadó, Budapest. pp. 133-143.
- Schaad, N.W., and Forster, R. L., 1985. A semiselective agar medium for isolating *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* from wheat seeds. *Phytopathology* 75, 260-263.
- Schaad, N. W. and Forster, R. L., 1989. *Detection of Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in wheat. (Edited by Saettler, A. W. and N. W. Schaad), *Detection of Bacteria and Other planting Material*, USA., 122p.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W., 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, Third Edition. APS Press 373p.
- Smith, E. F., Jones, L. R. and Reddy, C.S., 1919. The black chaff of wheat. *Science*, 50: 48.
- Wallin, N. W., and Reddy, C. S., 1945. A bacterial streak disease of *Phleum pratense* L. *Phytopathology* 35: 937-939.
- Wallin, J. R., 1946. Parasitism of *Xanthomonas translucens* (J. J. and R.) Dowson on grasses and cereals. *Iowa St. Coll. J. Sci.*, 20, 171-193.
- Young, J. M., Saddler, G. S., Takikawa, Y., De Boer, S. H., Vauterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R. I.,



and Stead, D.E., 1996. Names of plant pathogenic bacteria 1864-1995. Review of Plant Pathology 75:721-763.

Zillinsky, F. J. and Borlaug, N. E., 1971. Progress in developing triticale as an economic crop. Int. Maize Wheat Improv. Cen. Res. Bull., 17: 18-21.